

Approved For Release STAT
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130

Dec

Approved For Release
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130



Вторая Международная конференция
Организации Объединенных Наций
по применению атомной энергии
в мирных целях

A/CONF/15/P.2912
USSR
ORIGINAL: RUSSIAN

Не подлежит оглашению до официального сообщения на Конференции

ВЛИЯНИЕ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПОГЛОЩЕНИЕ И
ВЫДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА И СЕРЫ КОРНЕВЫМИ СЕЯНЦАМИ
ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

А.К.Ахромейко, В.А. Шестакова

Вопрос о взаимоотношениях ризосферной микрофлоры с высшими растениями давно уже привлекает внимание многих исследователей. Особенно много работ опубликовано в последние годы (1-17).

К сожалению, в литературе по этому вопросу имеется мало данных, относящихся к древесным растениям. Нередко встречаются спорные, противоречивые взгляды на роль микрофлоры в питании растений.

Метод меченых атомов открывает новые возможности в изучении взаимоотношений между микрофлорой и растениями.

В данной работе с помощью меченых атомов изучалось:

1. Влияние ризосферных микроорганизмов на поглощение фосфора корнями сеянцев древесных растений.
2. Использование сеянцами древесных растений фосфора, поглощенного микроорганизмами.
3. Влияние ризосферных микроорганизмов на корневые выделения сеянцев древесных растений.
4. Влияние корневых выделений сеянцев древесных растений на развитие ризосферных микроорганизмов.

Методика исследований

Большая часть опытов была проведена в вегетационных сосудах (песчаные и водные культуры), некоторые исследования были проведены в полевой обстановке на подзолистой легкосуглинистой почве.

25 YEAR RE-REVIEW

-2-

В песок и воду вносилась смесь Гельригеля из расчета С,5 норм. В один сосуд высаживалось по 6 проростков дуба (микотрофное растение) или ясеня зеленого (немикотрофное). Влажность песка в течение всего опыта поддерживалась на уровне 60% от полной влагоемкости. Водные культуры искусственно аэрировались. Опты производились в нестерильных условиях. В часть сосудов вносилась водная взвесь бактерий, выделенных из ризосферы дуба: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas radiobacter*, *azotobacter chroococcum*.

Как показали предварительные исследования, эти бактерии хорошо приживались в ризосфере сеянцев не только дуба, но и ясеня. Контрольные сосуды не обогащались бактериями.

При изучении влияния микроорганизмов на поглощение фосфора сеянцами древесных растений, в вегетационные сосуды вносился в качестве метки раствор $\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$, радиоактивность которого составляла 2,0 $\mu\text{с}$ на 1 кг песка.

В опытах по изучению корневых выделений растворы радиоактивных изотопов фосфора и серы в большинстве случаев наносились на листья. Удельная активность растворов составляла 20 $\mu\text{с}/\text{мл}$.

Радиоактивность исследуемых объектов определялась с помощью счетчика Гейгера-Мюллера.

В отдельных опытах проводилось определение содержания общего фосфора в растениях химическим методом.

Учет микрофлоры на поверхности физиологически активных корней, в песке и в водной среде проводился обычным методом последовательных разведений (на мясо-пептонном агаре, сусло-агаре и среде Федорова).

1. Влияние ризосферных микроорганизмов на поглощение фосфора корнями сеянцев древесных растений

В результате проведения нескольких серий опытов с помощью радиоактивного фосфора было установлено, что обогащение песчаной среды ризосферными бактериями ослабляет поглощение фосфора сеянцами дуба и ясеня зеленого.

Сказанное иллюстрируется кривыми, приведенными на рис. 1, из ознакомления с которыми видно, что в условиях данного опыта поглощение фосфора сеянцами дуба при искусственном обогащении песка ризосферными бактериями значительно отстает от контроля. И только через два месяца оно выравнивается в обогащенных и не-

-3-

обогащенных бактериями сосудов. Подобные же результаты были получены и в опыте с ясенем зеленым.

Для расшифровки этого явления был проведен более краткосрочный опыт с учетом общего количества микроорганизмов, содержания радиоактивного фосфора в сеянцах и в отцентрифугированном осадке водной вытяжки из песка, содержащим мельчайшие илестные частицы, бактериальные клетки, гифы и споры грибов.

Результаты этого учета, проведенного через 31 день после закладки опыта, приводятся в таблице 1.

Таблица 1
Влияние бактерий на поглощение фосфора
сеянцами дуба и ясеня

Порода	Вариант опыта	Общее колич. микро-организ. в песке (млн/л)	Содержание P^{32} в сеянцах и в осадке из песка (тыс.имп/мин/г сухого вещества)				
			Листья	Ство-лики	Корни		Оса-док из песка
					толст. (до 1 мм)	тонкие (от 1 мм)	
Дуб	Контроль	21	5,1	6,7	6,5	17,0	16,8
	Внесены бактерии	3200	3,9	3,2	4,4	12,3	33,9
Ясень	Контроль	17	24,8	10,6	23,3	85,3	14,8
	Внесены бактерии	1120	16,8	9,0	22,2	60,2	53,8

Из приведенных данных видно, что в обогащенных бактериями сосудах общее количество микроорганизмов и количество радиоактивного фосфора в осадке из песка было значительно больше, чем в контрольных сосудах. В то же время, содержание радиоактивного фосфора в сеянцах из обогащенных сосудов значительно отставало от контроля.

Проведенные исследования подтверждают факт биологического связывания фосфора при интенсивном развитии микроорганизмов.

II. Использование сеянцами древесных растений фосфора, поглощенного микроорганизмами

С целью выяснения сроков и степени перехода в усвояемое со-

стоянии поглощенного микроорганизмами фосфора, были проведены исследования в почвенных культурах с сеянцами дуба и ясеня.

Опыты проводились в зимний период (в лабораторных условиях) и в летний (в вегетационном домике).

В песок вносилась водная взвесь дающих большую биомассу почвенных дрожжей из рода *Torula*, выращенных на сусло-агаре, содержащем радиоактивный фосфор (2 μ с/мл).

В контрольные сосуды вносился радиоактивный фосфор в виде раствора $\text{NaN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$. Радиоактивность раствора и взвеси дрожжей составляла 480 тыс. имп/мин/сосуд.

Результаты первого зимнего опыта, приведенные в табл. 2, показывают, что фосфор, входящий в состав микробных клеток, через 65 дней был поглощен сеянцами дуба, хотя и в меньшем количестве, чем фосфор, внесенный в сосуды в виде раствора $\text{NaN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$.

По количеству же общего фосфора опытные сеянцы мало чем отличались от контрольных. Объясняется это, очевидно, тем, что сеянцы дуба в начале своего развития используют фосфор, главным образом, из желудей.

Отмечено небольшое повышение сухого веса сеянцев в варианте с внесением дрожжевой массы, которое может быть объяснено положительным влиянием на их рост продуктов распада и продуктов жизнедеятельности дрожжей (витамины, ауксины, аминокислоты).

Таблица 2

Поглощение сеянцами дуба фосфора, входящего
в состав дрожжевых клеток

Форма вне- сенного в сосуды P^{32}	Общее колич. микроорганиз. (млн/г)		Абс. сухой вес 10 расте- ний (г)	Содержание P^{32} в сеянцах (имп/мин)		Содержание P_2O_5 в сеянцах (мг)	
	в песке	на корнях		на 1г сухого вещества		на 1 г сухого вещества	
				надзем. массы	корней	надзем. массы	корней
Раствор $\text{NaN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$ (контроль)	3,2	17,0	6,5	164	358	4,58	5,30
Дрожжевая масса	3,6	40,3	7,8	110	86	4,54	4,41

-5-

Второй зимний опыт был проведен по той же схеме, но каждый вариант его включал обогащение песка бактериями (*Azotobacter chroococcum* и *Pseudomonas fluorescens*), что привело к ослаблению поглощения радиоактивного фосфора сеянцами дуба, особенно заметное при внесении его в виде дрожжевой массы.

Летние опыты проводились в песчаных культурах с сеянцами дуба и ясеня. Во все сосуды вносилась водная взвесь радиоактивных почвенных дрожжей, активность которой составляла 180 тыс. имп/мин сосуд.

Часть сосудов обогащалась взвесью бактерий (*Pseudomonas radiobacter*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter chroococcum*), остальные (контрольные) не обогащались.

Один опыт заканчивался через 10 дней, другой - через 20 дней после внесения взвеси дрожжей.

Приведенные в таблице 3 данные показывают, что уже на 10-й день опыта радиоактивный фосфор, поглощенный дрожжевыми клетками, становится доступным для растений. На 20-й день количество поглощенного сеянцами фосфора возросло, примерно, в 2-3 раза.

Обогащение песка ризосферными бактериями и в этом случае снижало поглощение радиоактивного фосфора сеянцами.

На основании полученных данных можно сказать, что биологически связанный фосфор сравнительно быстро освобождается из микробных клеток в доступной для растений форме.

Таблица 3

Поглощение сеянцами дуба и ясеня фосфора,
входящего в состав дрожжевых клеток

Порода	Вариант	Общее количество микроорганизмов (млн/г)				Содержание P^{32} в 1 сеянце (имп/мин)	
		в песке		на корнях		через 10 дней	через 20 дней
		через 10 дней	через 20 дней	через 10 дней	через 20 дней		
Дуб	Радиоактив. дрож. масса	27	33	300	1245	368	950
	То же + бактерии	24	209	310	2200	316	618
Ясень	Радиоактив. дрож. масса	15	38	160	480	157	644
	То же + бактерии	105	305	230	1634	118	466

-6-

III. Влияние ризосферных микроорганизмов на корневые выделения семян древесных растений

О наличии корневых выделений у растений в литературе имеется много указаний (18-22).

Одним из авторов еще в 1936 г. (19) для сельскохозяйственных растений было установлено, что корневые выделения являются нормальной физиологической функцией, которой свойственны сезонные колебания и суточная ритмичность.

В 1953 г. доказано наличие суточного ритма корневых выделений у древесных растений (22).

С целью изучения влияния ризосферных микроорганизмов на интенсивность корневых выделений семян древесных растений, в 1954 г. были проведены вегетационные опыты с сеянцами дуба и ясеня в песчаных культурах.

Часть сосудов обогащалась взвесью азотобактера, который хорошо развивался в ризосфере дуба и ясеня, особенно в песчаных культурах.

Радиоактивный фосфор наносился на листья сеянцев в виде раствора $\text{Na}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$. Через 5 дней после этого опыты заканчивались.

Из приведенных в таблице 4 данных видно, что даже в краткосрочном опыте в песчаную среду через корни выделялось значительное количество радиоактивного фосфора, причем в опыте с сеянцами ясеня активность осадка из песка была почти вдвое больше, чем в опыте с сеянцами дуба. Возможно, что это связано с микотрофностью последнего.

Обогащение песка азотобактером способствовало интенсивному развитию других микроорганизмов и почти в три раза увеличило количество выделенного корнями радиоактивного фосфора.

23/2

-7-

Таблица 4

Влияние азотобактера на выделение фосфора корнями
сеянцев дуба и ясеня

Порода	Вариант	Количество микроорганизмов на корнях (млн/л)		Содержание P^{32} тыс.имп/мин		Абсолютно сухой вес одного сеянца	
		общее	азото-бактер	в ство-ликах и корнях 1 раст.	в 1 г осадка из песка	в г	в %
Дуб	Без обогащения бактериям	10	-	62,2	11,2	3,92	100
	Внесен. азотобак.	25	0,20	44,0	41,4	4,46	113
Ясень	Без обогащения бактериям	8	-	107,0	24,7	3,91	100
	Внесен азотобак.	102	0,17	92,0	78,9	4,95	126

Отмечено, что вес сеянцев в обогащенных азотобактером сосудах был на 13% (дуб) и 26% (ясень) выше, чем в контрольных.

В опытах, проведенных в водных культурах, сеянцы дуба и ясеня поглощали радиоактивный фосфор корнями из водной среды в течение пяти дней. Затем сеянцы переносились в новые колбы без P^{32} . Предварительно корни сеянцев тщательно отмывались фосфатным буфером от радиоактивного фосфора, адсорбированного на их поверхности.

Часть колб обогащалась азотобактером. Анализы проводились через 1, 3 и 5 дней.

Результаты опыта показывают, что параллельно увеличению количества микроорганизмов наблюдалось накопление в водной среде радиоактивного фосфора, выделенного корнями растений (Рис.2).

Результаты исследований позволяют предполагать, что связанный клетками бактерий фосфор оставался в песке и в водной среде, не попадая за истекший отрезок времени обратно в растения в процессе обмена со средой, как это могло быть в контрольных сосудах, где микроорганизмов было значительно меньше.

В суточных опытах, проведенных в водных культурах с сеянцами

-8-

дуба, на листья наносились растворы радиоактивных изотопов фосфора ($\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$) или серы (метионин). Часть сосудов обогащалась взвесью бактерий (азотобактер или *Pseudomonas radiobacter*). Через каждые 6 часов в течение суток определялась активность и количество микроорганизмов в водной среде.

Результаты опытов приводятся на рис. 3 и 4.

Ход кривых показывает, что в течение суток наблюдались колебания в количестве корневых выделений и в развитии микроорганизмов, причем обогащение среды бактериями способствовало в большинстве случаев увеличению содержания в корневых выделениях радиоактивных изотопов фосфора и серы.

Необходимо отметить, что минимумы в содержании в водной среде корневых выделений и бактерий приходится на ночные часы и совпадают с минимальными температурами воздуха.

IV. Влияние корневых выделений сеянцев древесных растений на развитие ризосферных микроорганизмов

В литературе имеется много указаний о положительном влиянии высших растений на развитие ризосферной микрофлоры (23-26).

Отмечено также, что корневые выделения древесных растений, являющиеся пищей для ризосферных микроорганизмов, способствуют их развитию.

В данной работе авторы пытались путем воздействия на корневые выделения проследить за размножением микроорганизмов в прикорневой зоне сеянцев ясеня.

Опыты проводились в песчаных культурах. В песок части сосудов вносилась водная взвесь азотобактера.

На листья сеянцев наносились следующие растворы: 1) $\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$, разведенный в 1,8%-ном растворе KH_2PO_4 ; 2) $\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$, разведенный в 1,8%-ном растворе глюкозы, удельная активность обоих растворов составляла 20 $\mu\text{с}/\text{мл}$. Контролем служили сосуды, в которых листья сеянцев смачивались водой. Анализ проводился через 10 и 30 дней после обработки листьев.

Результаты опытов приводятся в таблице 5. Из приведенных данных видно, что некорневая подкормка сеянцев фосфором способствовала значительному росту числа микроорганизмов на корнях и в пес-

23/2

-9-

ке. Глюкоза оказала гораздо меньшее влияние на развитие микрофлоры. Слабое размножение микроорганизмов отмечено в сосудах без растерий.

Добавленный к растворам радиоактивный фосфор позволяет отметить передвижение их по растению и выделению в песок.

Отмечено, что радиоактивный фосфор, нанесенный на листья сеянцев с раствором глюкозы, проник в корни в значительно меньшем количестве (почти в 5 раз), чем в смеси с KH_2PO_4 .

Очевидно, глюкоза в значительной мере задерживается в листьях и стеблях, участвуя в синтетических процессах.

Аналогичные опыты проведенные в полевых условиях с сеянцами дуба дали такие же результаты.

В итоге можно считать установленным, что интенсивная жизнедеятельность растений, ведущая к значительному выделению корнями органических и минеральных веществ, способствует значительному накоплению в ризосфере различных групп почвенных микроорганизмов, вступающих в разнообразные и сложные взаимоотношения с высшими растениями.

Таблица 5

Влияние корневых выделений сеянцев ясеня на развитие микрофлоры

Вариант		Объект	Количество микроорганизмов			
			общее (млн/г)		азотобактер*)	
			через 10 дней	через 30 дней	через 10 дней	через 30 дней
	1	2	3	4	5	6
Без внесения бактерий	Контроль с растериями	песок	0,9	0,4	-	-
		корни	16,0	17,2	-	-
	KH_2PO_4 +	песок	15,0	27,4	-	-
	$\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$	корни	18,6	62,0	-	-
	Глюкоза +	песок	6,6	0,6	-	-
	$\text{NaH}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$	корни	14,2	16,9	-	-
	Контроль без растений	песок	1,6	0,5	-	-

-10-

	1	2	3	4	5	6
Внесен азотобак- тер.	Контроль с	песок	3,7	1,1	100	100
	растениями	корни	17,6	18,9	75	68
	KN_2PO_4 +	песок	19,5	28,7	100	100
	$\text{NaN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$	корни	19,2	72,3	93	90
	Глюкоза +	песок	12,6	4,8	100	100
	$\text{NaN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$	корни	12,2	24,4	89	78
	Контроль без расте- ний	песок	5,1	0,3	100	100

*) Количество азотобактера выражено в % обраста-
ния частиц песка и кусочков тонких корней.

В ы в о д ы

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

1. Интенсивное развитие микроорганизмов в ризосфере временно задерживает поступление фосфора в растения. Поглощенный микроорганизмами фосфор уже через 10 дней в значительной части становится доступным для растений.

2. Ризосферные микроорганизмы поглощают фосфорсодержащие соединения, выделяющиеся корнями сеянцев дуба и ясеня, способствуя тем самым выделению новых количеств этих соединений в песчаную и водную среды.

3. Отмечен суточный ритм как в интенсивности корневых выделений растений, так и в развитии бактерий. Минимальные количества фосфора и серы, выделенные корнями сеянцев дуба и ясеня, а также наименьшее число живых клеток азотобактера обнаружены в ночные часы, когда температура воздуха была наименьшей.

4. Фосфорсодержащие корневые выделения сеянцев дуба способствуют интенсивному развитию микрофлоры в прикорневой зоне.

1312

-11-

Л и т е р а т у р а

1. Исакова А.А. "К вопросу о воздействии бактериоризы на растения и об его сущности". Тр. ин-та физиол.раст., АН СССР, т.2, 1937
2. Красильников Н.А. "О влиянии микроорганизмов на рост растений". Микробиол., т.IX, в.1, 1940
3. Красильников Н.А. "О микробиологических процессах в ризосфере растений". Проблемы сов.почвовед., XI, 1940.
4. Красильников Н.А. "О взаимоотношении микроорганизмов почвы с растениями". Почвовед. № 3, 1944
5. Красильников Н.А. "Бактериальная масса ризосферы растений". Микробиол., т.XIII, № 4, 1944
6. Лысенко Т.Д. "О почвенном питании сельскохозяйственных растений". Газета "Известия", 27 сент., 1949
7. Gerresten F.C. "The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant". Plant a. Soil, v.1, p.51, 1948
8. Kramer P.G. and Wilbur K. "Absorbtion of radioactive phosphorus by mycorrhizae roots of Pine". Science, F.110, с.8-9, 1949
9. Melin E. and Nilson H. "Transfer of radioactive phosphorus to Pine seedlings by means of mycorrhizae hyphae". Physiol. Plantarum, v. 3, F.1, 1950
10. Березова Е.Ф. "Взаимоотношения растений с микрофлорой почвы". Агробиол, № 5, 1950
11. Красильников Н.А. "Усвоение корнями растений продуктов жизне-деятельности микробов". ДАН СССР, т.XXIX, в. 5, 1951
12. Доросинский Л.М. "Корневое питание растений и микроорганизмы". Агробиол., № 2, 1951
13. Красильников Н.А. и Беззубенкова А.П. "Влияние бактерий на усвоение растениями органических веществ". ДАН СССР, т.101, № 6, 1955
14. Доросинский Л.М. и Ласарев Н.М. "Роль микроорганизмов в корне-вом питании растений". Изв. АН СССР, сер.биол., № 3, 1955
15. Красильников Н.А. и Котелев В.В. " Влияние почвенных бактерий на усвоение растениями соединений фосфора". ДАН СССР, т.140, № 5, 1956
16. Федоров М.В. и Пантош Д. "Физиологические особенности основных форм ризосферных бактерий яровой пшеницы". ДАН СССР, № 116, № 1, 1957

-12-

17. Шавловский Г.М. "Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений органическими соединениями серы". ДАН СССР, т.ХСІ, № 5, 1953
18. Прянишников Д.И. "Опыты с фосфатами, относящиеся к вопросу о корневых выделениях". Юбилейный сборник, 1928
19. Ахромейко А.И. "О выделении корнями растений минеральных веществ". Изв. АН СССР, сер. биол. № 1, 1936
20. Мешков Н.В. "Корневые выделения высшего растения". Тр. Всес. конферен. по вопр. почв. микробиологии, 1952
21. Геллер И.А. "О корневых выделениях растений". ДАН СССР, т.ХСV, № 5, 1954
22. Ахромейко А.И. и Журавлева М.В. "Поглощение минеральных питательных веществ корнями древесных растений". Применение изотопов при агрохимических и почвенных исследованиях, АН СССР, М., 1955
23. Starkey R. "Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil". Soil. Sci., 5, с. 367, 1931
24. Красильников Н.А. "Влияние корневых выделений на развитие азотобактера и др. почвенных микробов". Микробиол., т.Ш, в.3, 1934
25. Мешков Н.В. "Вещества, активирующие рост микроорганизмов в корневых выделениях растений". Журн. общей биол., ХШ, 1952
26. Rovira A.D. "Plant root excretion in relation to the rhizosphere effect". Plant a. Soil, v.7, №2,3, 1956

23/2

- 13 -

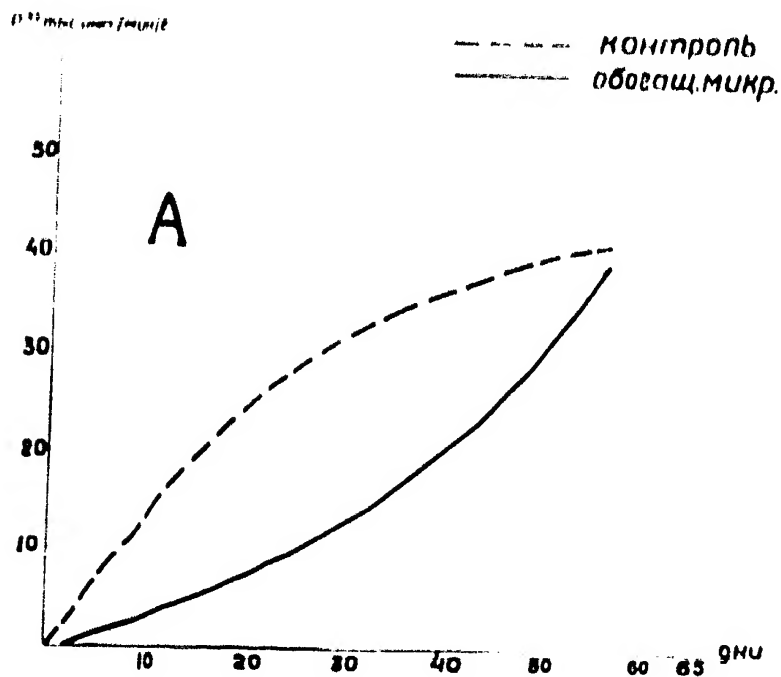
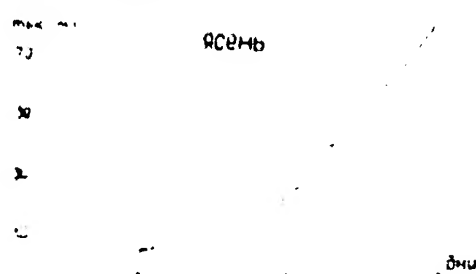
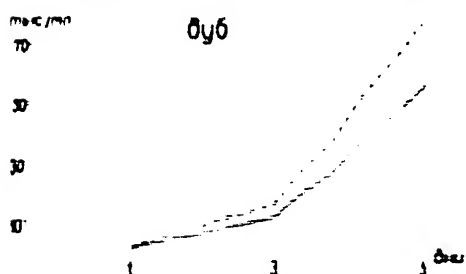


Рис. 1. Влияние микроорганизмов на поглощение P^{32} сеянцами дуба

Общее количество микроорганизмов в водной среде



Количество P^{32} , выделенного корнями и учтенного в водной среде

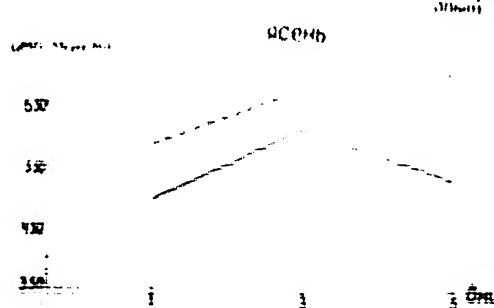
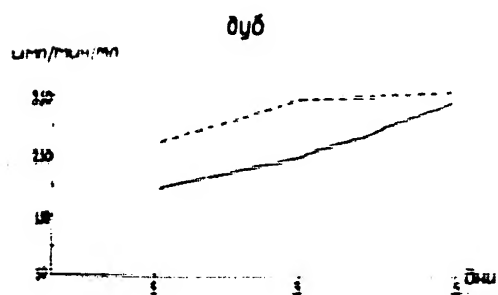


Рис. 2. Влияние азотобактера на корневые выделения сеянцев дуба и ясеня

- 14 -

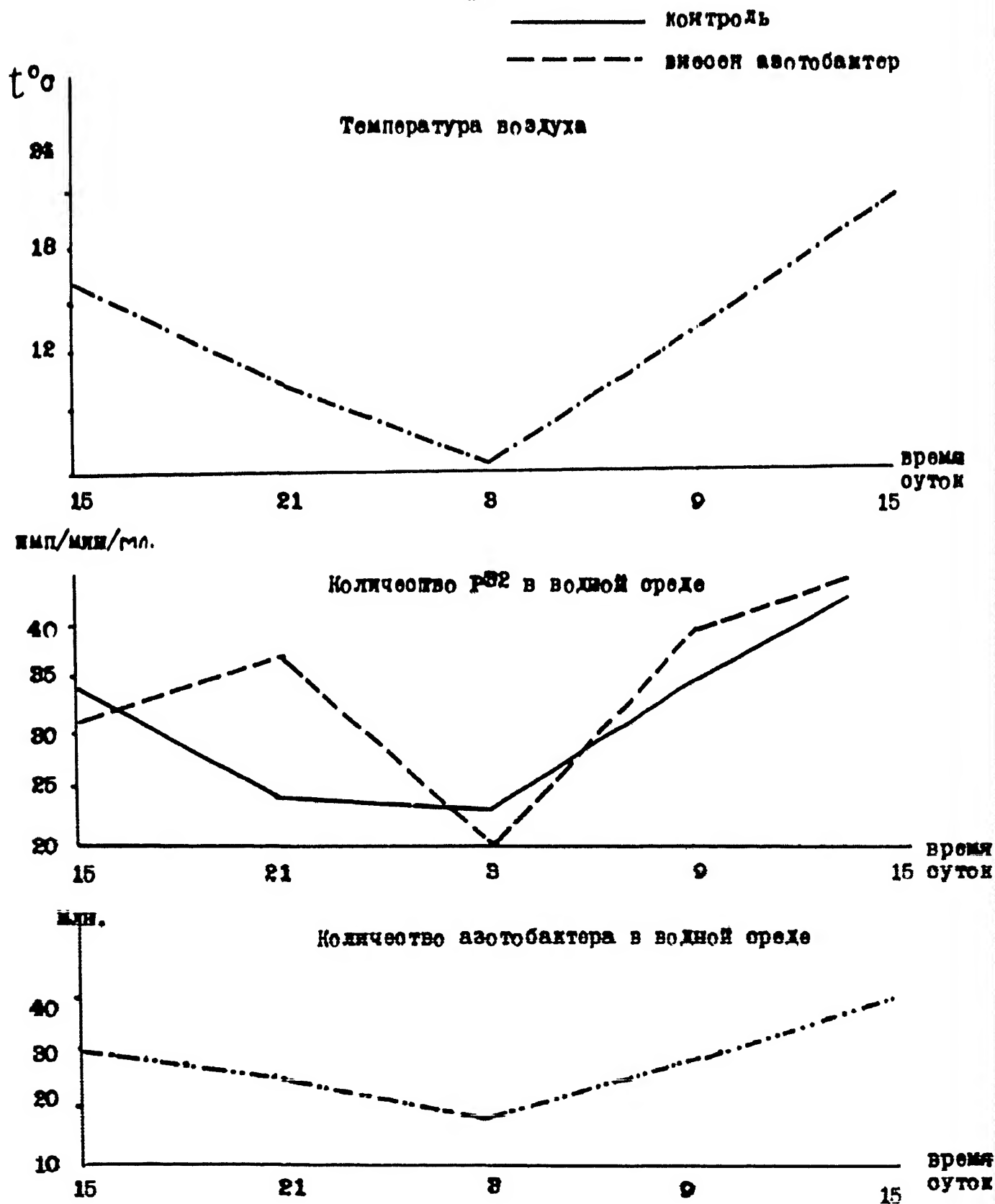


Рис. 3. Влияние азотобактера на суточный ход выделений семян-

- 15 -

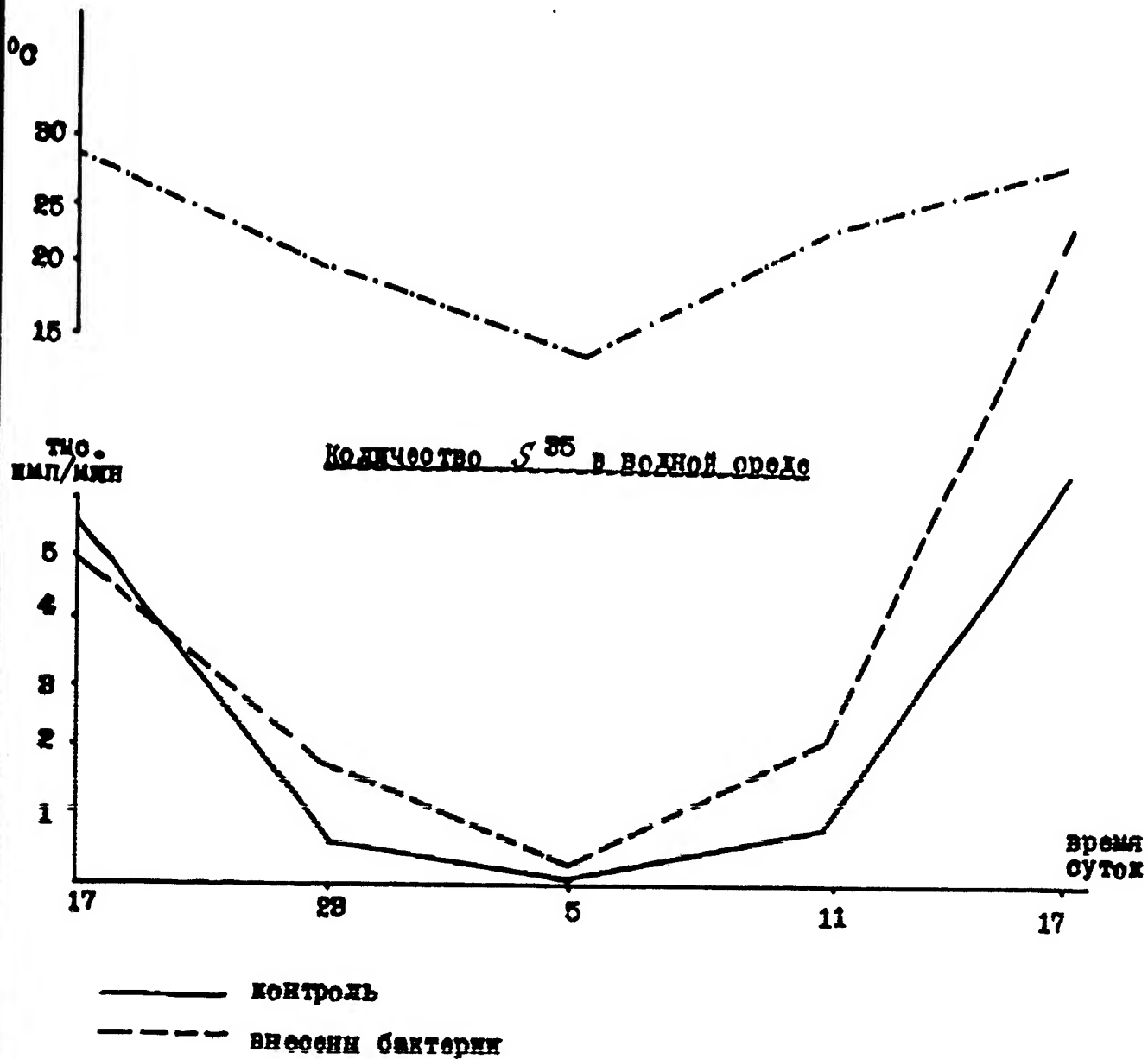
ТЕМПЕРАТУРА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Рис. 4. Влияние *Pseudomonas radiobacter* на суточный ход корневых выделений сеянцев дуба